

**II МЕЖДУНАРОДНАЯ
НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ**

БИОРАЗНООБРАЗИЕ И УСТОЙЧИВОЕ РАЗВИТИЕ

12-16 сентября 2012 года, г. Симферополь, Украина



ТЕЗИСЫ ДОКЛАДОВ

Симферополь, 2012

чность формы карасей разных видов. Специфика показателей направленной асимметрии серебряных карасей, возможно, связана с биологическими особенностями этого вида, популяции которого могут включать особей с разным набором хромосом, обуславливающим существование диплоидно-триплоидного комплекса серебряного карася.

Таким образом, на основе многомерных методов геометрической морфометрии с использованием 13 билатеральных гомологичных меток в популяциях филогенетически близких видов серебряного и золотого карасей, совместно обитающих в условиях повышенного загрязнения и радиационного фона оз. Большой Игиш,

выявлено значимое возрастание флуктуирующей асимметрии формы тела рыб. Несмотря на близкое родство видов рыб, популяции серебряного карася в отличие от популяций золотого карася характеризуются наиболее высокими показателями направленной асимметрии формы. Повышенный уровень флуктуирующей асимметрии косвенно отражает дестабилизацию морфогенеза карасей в условиях оз. Большой Игиш.

Работа выполнена при поддержке программы УрО РАН по проекту №12-С-4-1031 совместных фундаментальных исследований с СО РАН и ДВО РАН.

Список источников

1. Баранов В.Ю. Анализ флуктуирующей асимметрии формы тела речного окуня в условиях радиоактивного загрязнения водоемов бассейна реки Теча / В.Ю. Баранов / Современные проблемы биологических исследований в Западной Сибири и на сопредельных территориях: Всероссийская научная конф., посвященная 15-летию биологического факультета Сургутского государственного университета, 2-4 июня 2011 г.: материалы конф. – Сургут, Изд-во ООО «Таймер», 2011 – С.124-127.
2. Захаров В.М. Асимметрия животных / Владимир Михайлович Захаров. – М.: Наука, 1987. – 216 с.
3. Павлинов И.Я. Принципы и методы геометрической морфометрии / И.Я. Павлинов, Н.Г. Микешина // Журн. общ. биологии. – 2002. – Т.63, № 6. – С.473-493.
4. Современная радиоэкологическая обстановка в некоторых озерных экосистемах ВУРСа (Челябинская область) / В.В. Дерягин, А.А. Сулягин, С.Ф. Лихачев [и др.] // Семипалатинский испытательный полигон. Радиационное наследие и проблемы нераспространения. Материалы III международной научно-практической конф. – Курчатов, 2008 г. – С. 28-29.
5. Современное радиоэкологическое состояние озера Малый Игиш, расположенного на осевой части Восточно-уральского радиоактивного следа / С.Г. Левина, Д.З. Шибкова, В.В. Дерягин [и др.] // Радиационная биология. Радиоэкология. – 2006. – т. 46. – № 1. – С. 111 – 116.
6. Bookstein F.L. Morphometric tools for landmark data: geometry and biology / Fred L. Bookstein. – Cambridge: Cambridge Univ. Press, 1991. – 198 p.
7. Klingenberg C.P. Geometric morphometrics of developmental instability: analyzing patterns of fluctuating asymmetry with procrustes methods / C.P. Klingenberg, G.S. McIntyre // Evolution. – 1998. – Vol.52, №5. – P.1363-1375.
8. Palmer R.A. Fluctuating asymmetry: measurement, analysis, patterns / R.A. Palmer, C. Strobeck // Ann. Rev. Syst. – 1986. – Vol.17. – P.391-421.
9. Sneath P.H.A. Numerical taxonomy. The Principles and practice of numerical classification / P.H.A. Sneath, R.R. Sokal. – San Francisco: W.H. Freeman and Co., 1973. – 573 p.
10. Vasil'ev A.G. Phenogenetic monitoring of the weeping birch (*Betula pendula* Roth.) in the Middle Urals: testing a new method for assessing developmental instability in higher plants / A.G. Vasil'ev, I.A. Vasil'eva, Yu.F. Marin // Russian journal of Ecology. – 2008. – Vol.39, №7. – P.483-489.

УДК 577.115:597.2./5(07)

ОПРЕДЕЛЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ ЛИПИДОВ В ТКАНЯХ ГИДРОБИОНТОВ (МИКРОМЕТОД)

Басова М.М.

Институт биологии южных морей им. А.О. Ковалевского НАН Украины, г. Севастополь, Украина

Особое внимание в эколого-физиологических исследованиях принадлежит липидам, в значительной степени определяющим структурно-функциональную целостность и адаптационный потенциал как клетки, так и организма в целом. В условиях влияния различных неблагоприятных факторов (повышенные концентрации токсикантов, нарушение температурного и кислородного режима) количественные и качественные показатели липидного состава могут выступать

информативными и адекватными биомаркерами для оценки физиологического состояния гидробионтов и среды их обитания [1-5]. Среди известных методик количественного определения липидов в тканях живых организмов и гидробионтов, в частности, особое место принадлежит наиболее востребованным микрометодам. Несмотря на многие применяющиеся в гидробиологии микрометоды количественного определения липидов существует проблема

точности определения и воспроизводимости этого показателя. В связи с этим задача поиска высокоточного и простого способа определения липидов остается крайне актуальной.

Существует множество методов количественного определения липидов в тканях животных [6-7]. В процессе применения простого и доступного метода Julian B.Marsh and David B.Weinstein [7] нами были обнаружены некоторые недостатки. Среди самых существенных:

1. метод предназначен для сжигания 5-300 мкг липидов в пробе, без тонкой проработки наиболее важного для исследования микродиапазона - до 30 мкг липидов в пробе;

2. растворители удаляют из липидных образцов под током азота в алюминиевом жаровом шкафу при температуре 80-100° С, что трудоемко;

3. температура внутри пробирок в жаровом шкафу должна отслеживаться в диапазоне 20° С в период сжигания, что предъявляет высокие требования к техническим характеристикам шкафа и вносит дополнительные трудозатраты.

Цель настоящей работы – применить этот простой метод количественного определения липидов в тканях рыб и других гидробионтов. Для этого нами испытана следующая модификация метода. Липиды экстрагируют из различных тканей (печени, мышц) рыб (ерша, султанки, зеленухи) смесью гексана и изопропанола почему [2]. Смесью гексана и изопропанола удаляют из липидных экстрактов в термостате при температуре 80-100° С 15-20 минут. После охлаждения пробирок, в каждую добавляют по 2 мл концентрированной серной кислоты и очень тщательно омывают на дне, осторожно встряхивая. Затем пробирки помещают в термостат при 200° С на 15 мин. После этого пробирки помещают в воду комнатной температуры на минуту, а затем сразу перемещают в ледяную баню на 5 мин. Затем измеряют оптическую плотность на спектрофотометре при длине волны 375 мкм. Для построения как можно более адекватной

калибровочной кривой применяли разные виды липидов (холестерин, масло виноградных косточек). В растворы холестерина обязательно добавляют немного антиоксиданта ВНТ для предотвращения процессов перекисного окисления липидов. Стандартные растворы холестерина и масла виноградных косточек были приготовлены в хлороформе и для построения калибровочной использовали концентрации 10, 20, 25, 30, 35, 40 и 60 мкг/мл. Расчет содержания липидов осуществляют по уравнению $y = 87,403x + 6,21$, где X – оптическая плотность, а Y – количество липидов в мкг. Полученная калибровочная позволяет рассчитывать микроколичества липидов в тканях гидробионтов в диапазоне 10-60 мкг в мл.

Предложенный метод обладает рядом преимуществ:

- предложен простой, эффективный и репрезентативный способ количественного определения липидов в тканях рыб и других гидробионтов;

- данный способ применим для точного определения микроколичеств липидов 10 - 60 мкг в мл, что подтверждается характером и уравнением калибровочной кривой;

- растворители удаляют из липидных образцов без тока азота в термостате при температуре около 100° С 15-20 минут;

- температуру внутри пробирок в жаровом шкафу можно не отслеживать в диапазоне 20° С в период сжигания;

- данный способ применим для точного определения микроколичеств липидов до 60 мкг в тканях животных и человека.

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о надежности, простоте, репрезентативности и перспективности применения этого метода для гидробиологических исследований.

Заявленный способ может быть использован как экспресс-метод для оценки физиологического статуса гидробионтов в условиях загрязнения [8].

Список источников

1. Бурлакова Е.Б., Храпова Н.Г. Перекисное окисление мембран и природные антиоксиданты // Успехи химии. – 1985. - № 9. – С. 154 – 156.
2. Верболович В.П. и др. Экстракция липидов для комплексной количественной оценки свободнорадикального окисления // Лаб. дело. – 1989. - № 12. – С. 57 – 59.
3. Владимиров Ю.А., Арчаков А.И. Перекисное окисление липидов в биологических мембранах. – М.: Наука, 1972. – 252 с.
4. Залевская И.Н., Басова М.М., Руднева И.И. Показатели липидного обмена как индикатор состояния их среды обитания // Заповедники Крыма: заповедное дело, биоразнообразие, экообразование: Материалы Третьей Крымской конференции, (22 апреля 2005). – Симферополь, ТНУ, 2005. – С. 87-88.
5. Басова М.М. Параметры липидного обмена – биомаркеры при окислительном стрессе у рыб // Современные проблемы водной токсикологии: Междунар. конф. 20-24 сент. 2005. Тез. докл. – Борок: Ин-т биол. внутр. вод РАН, 2005. – С. 13-14.
6. H. Barnes and J. Blackstock. Estimation of lipids in marine animals and tissues: detailed investigation of the sulphophosphovanillin method for total lipids // J. Exp. Mar. boil. Ecol. – 1973. – 12, № 1. - P. 103-118.
7. Julian B.Marsh and David B.Weinstein. Simple charring method for determination of lipids // Journal of Lipid Research. – 1966. – vol 7. – P. 574–576.

8. М. М. Басова, Н.А. Темурьянц, С.А. Максимов, А.А. Антипенко “Спосіб мікрокількісного визначення ліпідів в тканинах гідробіонтів”. Заявка № 200904150, пріоритет 27.04.09, рішення о видаче патента от 24 сентября 2009 г.

УДК 639: 528.237

ПАРАМЕТРЫ БИОХИМИЧЕСКОГО СОСТАВА КАК ИНДИКАТОРЫ СОСТОЯНИЯ ЧЕРНОМОРСКОЙ ВОДОРΟΣЛИ *Gelidium latifolium* (Grev.) Born. et Thur. (Rhodophyta)

Беляев Б. Н., Береговая Н. М., Далекая Л. Б.

Институт биологии южных морей им. А.О. Ковалевского НАН Украины, г. Севастополь, Украина

Красная черноморская водоросль гелидиум в биотехнологии ценится в связи с большим содержанием и высоким качеством агара. Не менее ценными продуктами, которые можно получить из водоросли, являются β - каротин, составляющий большую часть суммарных каротиноидов и обладающий антиоксидантными свойствами, хлорофилл, очищающий организм от шлаков, токсинов, бактерий, а также R-фикоэритрин, применяемый в иммунной диагностике, микроскопии и цитометрии (7). В то же время указанные биохимические параметры могут являться индикаторами состояния самой водоросли. Нами исследовалось влияние абиотических факторов (температура, соленость), а также концентрации биогенов (фосфора и азота) на содержание пигментов и агара в условиях культивирования. Динамика концентрации агара (А), суммарных каротиноидов (Кр), хлорофилла-а (Cl-a) и R-фикоэритрина (Φ_3) сопоставлялась с изменениями параметра удельная скорость весового роста μ .

Объектом исследования служила красная черноморская водоросль *Gelidium latifolium* (GREV.) Born. et Thur. (Rhodophyta), собранная с бетонных берегоукрепительных сооружений правого берега бухты Карантинной (Черное море, г. Севастополь).

Исследования по культивированию проводили на лабораторной установке (2). Такая установка позволяет проводить полные факторные эксперименты (ПФЭ) типа 2^3 с одним повтором и ПФЭ типа 2^2 с двумя повторами, либо дробный факторный эксперимент (ДФЭ) типа 2^{3-1} с двумя повторами (1), в которых температура, освещенность, плотность посадки макрофита и концентрация биогенов могут быть заданы на двух уровнях. Температуру варьировали от 15 до 25 °С. Освещенность при использовании люминесцентных ламп дневного (ЛД) и белого (ЛБ) света поддерживали на уровне 20 кЛк в режиме день – ночь в соотношении 16:8. Использовали питательную среду на основе прибрежной черноморской воды, соленость которой (17,5–18 ‰) меняли разбавлением дистиллированной водой до 9 ‰, либо добавлением морской соли до 34 ‰. Содержание биогенов варьировали от 4,76 мг (340 μ M) азота и 0,8 мг (26 μ M) фосфора до 8,54 мг (610 μ M) азота и 1,74 мг (56 μ M) фосфора на литр. Сырую

биомассу (обычно раз в неделю) определяли на аптекарских весах с точностью до 10 мг. Среднюю удельную скорость весового роста μ определяли по формуле (3). Суммарные каротиноиды и хлорофилл-а экстрагировали из одной навески хлороформ - этанольной смесью (2:1) и определяли по методике, разработанной в ИнБЮМ (6), выделение агара осуществляли путем щелочной (5), а фикоэритрина – водной экстракции (4).

Водоросли перед интенсивным культивированием в установке, в промежутках между сериями и после экспериментов, отправляли на “отдых” в 10–секционном 250–литровом аквариуме с фильтрованной прибрежной черноморской водой соленостью 17,5–18 ‰ без добавления биогенов, которую меняли 1 раз в месяц. Каждая секция барбатировалась сжатым воздухом. Освещенность не превышала 0,3 кЛк; температуру, которая в зависимости от сезона и погодных условий менялась от 13 °С до 25 °С, не регулировали.

Усредненные результаты двух серий измерений проб из эксперимента № 1, в котором температура поддерживалась на уровне 25–26 °С, освещенность – на уровне 20–22 кЛк, минеральное питание – до 4,8 мг азота и 0,8 мг фосфора на 1 л питательной среды и задавалось 4 уровня солености (9, 18, 26 и 34 ‰), показали, что при солености 35 ‰ содержание агара в 1,3–1,4 раза меньше, чем при уровнях солености 9–26 ‰, а средняя удельная скорость весового роста μ в 1,3–1,48 раз выше. Таким образом, влияние солености на содержание агара не содержит прямого действия – оно, вероятно, опосредовано через скорость наращивания биомассы. Содержание суммарных каротиноидов оказалось практически постоянным при всех уровнях солености, а содержание хлорофилла – пропорционально μ .

В эксперименте № 2 при исследовании скорости потребления биогенов поддерживали температуру $20 \pm 0,5$ °С, освещенность 23–25 кЛк, которая была непрерывной первые 106 часов. В объемах 1 – 4 задавали соленость 26 ‰, а в объемах 5 – 8–34 ‰. В объемах 3, 4, 7 и 8 задавали концентрацию биогенов на уровне 6,16 мг (440 μ M) азота (N) и 1,24 мг (40 μ M) фосфора (P) на литр среды, а в объемах 1, 2, 5 и 6 – соответственно 8,54 мг (610 μ M) и 1,74 (56 μ M).